

免疫散射比浊法检测 IgG 的性能验证*

周 博, 范 霞, 赵连爽, 康 辉 (中国医科大学附属第一医院检验科, 沈阳 110001)

摘要:目的 对免疫散射比浊法检测 IgG 的分析性能进行验证, 探讨适用于该系统性能验证的合理模式。方法 参照相关文件及标准, 对该系统检测 IgG 的精密度、正确度、分析测量范围(AMR)和参考区间进行验证。结果 低值样本批内精密密度为 2.24%, 总精密密度为 2.25%; 高值样本批内精密密度为 2.73%, 总精密密度为 2.68%; 检测不同批号配套校准品的相对偏倚为 5.18%; 初始稀释度 AMR 为 2.44~33.5 g/L; 参考区间与厂家声明一致。结论 该系统测定 IgG 的主要分析性能均与厂家声明的性能一致; 厂家提供的参考区间可以接受, 验证方案和统计方法简便、可操作性强。

关键词:免疫球蛋白 G; 性能验证; 散射比浊分析

中图分类号: R446.62 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2015)03-133-03

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2015.03.040

Performance Verification of Analyzing IgG by Immune Nephelometry Assay

ZHOU Bo, FAN Xia, ZHAO Lian-shuang, KANG Hui (Department of Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital of Chinese Medical Sciences University, Shenyang 110001, China)

Abstract: **Objective** To test and verify the performance of analyzing IgG using nephelometry assay, and discuss reasonable model of performance verification of this system. **Methods** According to related documents and standards, this study verified the precision, accuracy, assay measurement range (AMR) and reference interval. **Results** The within-run precision in low level was 2.24%, while it was 2.73% in high level. The overall precision in low level was 2.25%, while it was 2.68%. The relative bias between the results of analyzing the calibrator with a different lot from that used for calibrating and its concentration printed was 5.18%. The AMR of the original dilution was 2.44~33.5 g/L. The results of reference interval verification identified with what the manufacturer declares. **Conclusion** The major performances of analyzing IgG by this system are identifies with the manufacturer declares. The reference interval offered by the manufacturer is acceptable. The verification and calculation methods are simple and convenient, with strong operability.

Keywords: IgG; performance verification; nephelometry assay

免疫散射比浊分析仪目前被广泛应用于免疫球蛋白等特殊蛋白项目的检测, 与透射比浊方法相比, 其具有灵敏度高、线性范围广等诸多优势。本研究目的是评价免疫散射比浊分析方法检测 IgG 的精密度、正确度、临床可报告范围和参考区间验证等^[1] 4 项性能指标, 并探讨适用于此方法简单易行的验证方案。

1 材料与方法

1.1 样本来源 美国伯乐公司高、低值免疫学质控品; 与当前检测系统定标所使用的不同批号的定标液 1 瓶; 接近 IgG 厂家声明的初始检测上、下限的高、低值的临床样本各 1 份; 健康体检成人血清, 男、女各 10 份。

1.2 仪器及试剂 美国贝克曼库尔特公司 Immage800 全自动免疫散射比浊分析系统及配套 IgG 试剂盒, 配套定标液 Cal1, 稀释液, 缓冲液。

1.3 方法 按照厂家要求对仪器进行保养和维护, 每天进行质控(3 个水平), 在保证质控在控的

情况下进行验证实验。

1.3.1 精密度验证实验: 参考 EP15-A2 对 IgG 测定的精密度进行评价^[2], 采用高、低 2 个浓度的质控物, 每天分析 1 个批次, 每个浓度重复检测 4 次, 连续 5 天。数据经过离群值检验, 收集 40(2×20) 个有效数据, 并通过统计分析评价方法计算室内精密密度(总精密密度)和批内精密密度, 与厂家声明的范围进行比较。

1.3.2 正确度验证实验: 取厂家配套定标品作为定值物(非该项目当前使用批号的定标液)连续检测 3 次, 经统计学处理分析得到被检样品与标定浓度值的偏倚, 相对偏倚 = (测定值 - 靶值) / 靶值 × 100%, 与可接受范围进行比较^[3]。评价 IgG 的总允许误差范围按照美国 CLIA'88 中的要求规定为 25%, 正确度验证的可接受范围为总允许误差的 1/2, 即 12.5%。

1.3.3 分析测量范围(AMR)验证: 参照 EP6-A 采用平均斜率法对 IgG 的 AMR 进行评价^[4]。选

* 作者简介: 周 博(1984-), 男, 学士, 主管技师, 主要研究方向: 临床免疫学检验, E-mail: wallezhou@163.com。

通讯作者: 康 辉(1965-), E-mail: kanghui65@sina.com。

取接近仪器标注的分析测量范围上限和下限的两个分析浓度的样本(H和L),按照1L,0.8L+0.2H,0.6L+0.4H,0.4L+0.6H,0.2L+0.8H,1H的比例关系配制6个系列浓度的样本。对每个混合样本进行双份测定。将测定均值和预期值两组数据经统计后拟合回归线 $Y=bX+a$ 。去除“0”浓度后计算平均斜率是否在0.97~1.03之间,并利用 t 检验评价截距 a 与0是否存在显著性差异。

1.3.4 参考区间验证实验:选择20例健康体检成人个体(男、女各10例)作为参考个体,采用简化方案以小样本验证厂家提供的参考区间。20例结果中95%的结果在参考区间之内,则说明厂家提供的参考区间可以接受^[5]。

2 结果

2.1 精密度 每天分析2个浓度水平的室内质控品。结果见表1,表2。其中,低值质控品 $\bar{x}=7.067\text{ g/L}$, $s_{\text{批内}}=0.158$, $s_{\text{总}}=0.159$, $CV_{\text{批内}}=2.24\%$, $CV_{\text{总}}=2.25\%$;高值质控品 $\bar{x}=20.825\text{ g/L}$, $s_{\text{批内}}=0.568$, $s_{\text{总}}=0.558$, $CV_{\text{批内}}=2.73\%$, $CV_{\text{总}}=2.68\%$ 。

2.2 正确度 对厂家配套定标液Cal1连续测定3次,结果分别为15.4,15.5和15.8 g/L,均值为

15.567 g/L,定标液定值为14.8 g/L,测定结果的相对偏倚为5.18%。

表1 精密度验证低值样品(g/L)						
工作日	结果1	结果2	结果3	结果4	日均值	离群值检验
1	6.96	7.16	7.04	6.94	7.025	0.220
2	7.02	6.86	6.81	7.2	6.973	0.390
3	7.09	6.88	7.18	7.12	7.068	0.300
4	7.1	6.91	7.08	7.33	7.105	0.420
5	6.96	7.25	7.39	7.06	7.165	0.430

表2 精密度验证高值样品(g/L)						
工作日	结果1	结果2	结果3	结果4	日均值	离群值检验
1	20.5	20.5	21.1	20.4	20.625	0.700
2	21.8	20.5	20.8	20.8	21.225	1.300
3	20.7	19.7	21.2	21.3	20.725	1.600
4	20.7	21.3	20.2	20.9	20.775	1.100
5	20	21.3	20.8	21	20.775	1.300

2.3 分析测量范围 因所有的稀释为仪器自动进行,所以仅验证初始稀释度的AMR 2~36 g/L,各稀释系列结果见表3。

利用Microsoft Excel进行统计分析,预期值

表3 IgG测定值与预期值及各稀释系列斜率结果								
样本号	预期值(g/L)	实测值1(g/L)	实测值2(g/L)	均值(g/L)	去“0”浓度(g/L)	斜率	样品配制(相对量)	
							低值样品	高值样品
1	2.51	2.25	2.84	2.44	2.51		5	0
2	7.10	6.65	7.45	7.25	7.12	7.12	4	1
3	14.20	13.6	13.5	13.2	13.43	6.72	3	2
4	21.30	22.3	22	21.9	22.07	7.36	2	3
5	28.40	29	29.6	28.9	29.17	7.29	1	4
6	35.50	35.4	35.4	34.5	35.10	7.02	0	5

为X,测量均值为Y,作散点图。结果见图1。截距为-0.077,作与“0”差异的 t 检验, $t=0.252\ 3$,自由度为10, t 值取2.228, $t<t_0$, $P<0.05$,截距与“0”差异无统计学意义。

2.4 参考区间 厂家提供的健康人群参考区间为7.51~15.6 g/L,20例结果全部处于该参考区间内,100%符合,测定结果见表4。

表4 20例参考个体的IgG测定结果(g/L)										
性别	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
男	14.28	12.53	11.74	13.25	11.28	10.98	14.87	13.28	9.88	11.97
女	12.46	11.84	10.37	9.29	14.51	11.26	13.33	9.87	10.28	14.11

3 讨论 依据国际标准化组织发布的《医学实验室认可标准ISO15189》要求,临床实验室在引进新仪器正式用于临床样本检测之前,使用简捷、有效且节约成本的方法对如精密度、正确度、临床可报

告范围和参考区间等基本的性能指标进行验证。

精密度是反映系统检测结果重复性和再现性的基本性能参数^[6]。厂家声明的 $CV_{\text{批内}}<4\%$, $CV_{\text{总}}<6\%$,采用该方法进行实验的结果均在厂家

声明的范围之内,证明检测系统的精密度符合厂家声明的标准。

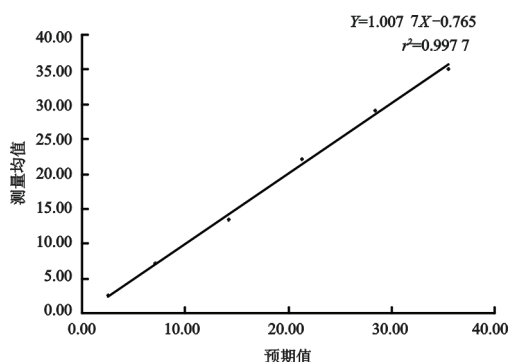


图1 预期值与测量均值回归分析结果

正确度反映的是单次检测结果与真值之间的偏倚大小。ISO15189 要求可以通过检测标准物质、商品化的校准品或通过与参考方法进行比对等方法进行正确度的验证。本实验采用检测校准品的方法,评估测定结果与该批校准品标示靶值之间的偏倚,以 CLIA'88 规定的 IgG 总允许误差的 1/2,即 12.5%为判定标准,测定 3 次均值与靶值的相对偏倚远小于实验室规定的正确度标准,证明该系统检测 IgG 的正确度符合要求。

分析测量范围(AMR)是指患者样本不经稀释或浓缩等任何样本预处理,由检验方法或检测系统得到的被分析物结果值的范围^[7]。本实验通过检测配制的系列浓度的样本,将得到的实测值与预期值进行线性回归分析,预期值与实测值相关性、斜率满足要求;截距作与“0”差异的 t 检验证明截距与“0”无统计学差异,是由统计引入的,确定本系统初始稀释度 1:216 倍稀释在 2.44~33.5 g/L 范围内线性良好,与厂家声明一致。Image800 自身具有自动稀释的特点,其他类似的散射比浊仪器亦是如此,所以不进行仪器外的样本预处理。IgG 的说明书中指出:检测 IgG 的起始稀释度为 1:216,分析范围是 2~36 g/L;以 6 倍为单位改变稀释度后,最小稀释度为 1:36,最大稀释度为 1:1296,其扩展的分析范围可达到 0.33~216 g/L。因此直接将临床可报告范围扩展为 0.406~212.1 g/L。需要注意的是,本方法 AMR 验证时不能验证扩展后的范围,因为扩展后的范围实际只是各稀释度 AMR 的叠加而已。

临床实验室在向患者发放检验结果的同时要提供检验项目的参考区间范围,如采用厂家提供的参考区间在本实验室使用,则必须对其进行验证以保证其可靠性,这是 ISO15189 及实验室质量管理的基本要求。本实验全部结果均在厂家声明的参

考区间之内,可以使用此参考区间作为本实验室 IgG 的参考区间。

以上实验结果显示,美国贝克曼库尔特 Image800 全自动免疫散射比浊分析系统测定 IgG 的精密度、正确度、AMR 等性能均与厂家声明或实验室要求一致,厂家提供的参考区间可以接受并使用,临床可报告范围是 0.406~212.1 g/L。本研究阐述的实验方案具有一定科学性,可操作性强,可以用于其它同类系统上检测项目的性能验证。

参考文献:

- [1] 张秀明,庄俊华,郑松柏,等. 临床化学发光免疫法检测 AFP 的分析性能验证方案与实验方法[J]. 中华检验医学杂志,2007,30(11):1293-1297.
Zhang XM, Zhuang JH, Zheng SB, et al. Method performance verification of the Clinical chemiluminescence immunoassay [J]. Chin J Lab Med, 2007, 30 (11):1293-1297.
- [2] 杨志钊,缪丽韶,杨山虹,等. 利用 CLSI EP15-A2 指南验证精密度和准确度[J]. 国际检验医学杂志, 2010,31(3):231-232.
Yang ZZ, Miu LS, Yang SH, et al. Venfication the precision and accuracy with CLSI EP15-A2[J]. International Journal of Laboratory Medicine, 2010, 31(3): 231-232.
- [3] Clinical and Laboratory Standards Institute, EP15-A2. User Verification of Performance for Precision and Trueness; Approved Guideline-Second Edition [S]. Wayne, PA, CLSI EP15-A2, 2008.
- [4] 周琦,李少男,李小鹏,等. 利用美国国家临床实验室标准化委员会 EP6-A 指南判定线性[J]. 中华检验医学杂志, 2006, 29(1):85-86.
Zhou Q, Li SN, Li XP, et al. Using CLSI EP6-A to verify the assay measurement range[J]. Chin J Lab Med, 2006, 29(1):85-86.
- [5] 郑松柏,张秀明,庄俊华,等. 化学发光免疫法检测甲胎蛋白临床可报告范围的建立[J]. 中国现代医学杂志, 2008, 18(14):2069-2071.
Zheng SB, Zhang XM, Zhuang JH, et al. Establishing the clinical reportable range of chemiluminescence immunoassay in detection of AFP[J]. China Journal of Modern Medicine, 2008, 18(14):2069-2071.
- [6] 高志琪,王清涛,周睿. 全自动尿沉渣分析仪 UF-1000i 的性能评价及临床应用[J]. 现代检验医学杂志, 2014, 29(3):121-124.
Gao ZQ, Wang QT, Zhou R. Evaluation of automated UF-1000i analytical performance and its clinical application[J]. Journal of Modern Lab Med, 2014, 29(3): 121-124.
- [7] 杨有业,张秀明. 临床检验方法学评价[M]. 北京:人民卫生出版社, 2008:168-195.
Yang YY, Zhang XM. Clinical laboratory evaluation methodology[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2008:168-195.

收稿日期:2014-11-20

修回日期:2015-03-27